虚拟切片技术在肾内科临床、科研和教学的应用及其前景

Application Prospect of Virtual Slide Technology in Nephrology Clinical Practice, Research and Teaching

李超[1] 李航
中国医学科学院 北京协和医学院 北京协和医院肾内科，北京 100730
通信作者：李航，E-mail: lihang9@hotmail.com

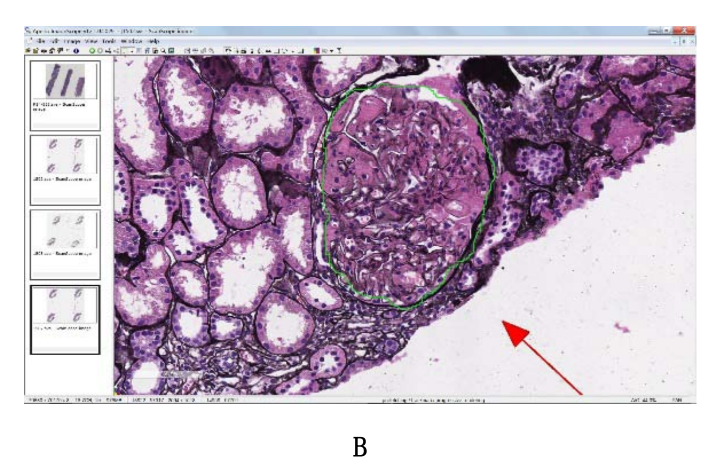
虚拟切片（Virtual slide）又称数字病理（digital pathology），利用线性扫描技术对整个玻璃切片全方位快速扫描，将传统的载玻片转化为全景切片图像（whole slide images, WSI）。WSI 扫描系统则由光学显微镜、切片扫描、图像采集等硬件设备和图像获取软件共同组成。WSI 通过数字切片扫描装置采集高分辨数字图像，并由软件将图像自动进行无缝拼接处理制作而成。WSI 通过放大操作可还原原始的高分辨率图像，与普通的静态图像通过浏览软件缩放只改变尺寸而无法提高分辨率的操作有着本质的不同（图 1）。WSI 图像软件还可以让使用者旋转、编辑、标记、测量分析图像。近年来，交互技术的应用，使得虚拟切片的易用性进一步提升。以 virtual slide、digital pathology、whole slide image 作为检索词在 Pubmed 检索发现，其相关研究数量呈现逐年增长趋势（图 2）。

近年来虚拟切片已开始逐渐替代玻璃切片和传统的光学显微镜用于病理科教学和培训，但在肾内科教学与培训领域尚未广泛使用。肾脏病理既是病理学的重要分支，也是肾脏病学必不可少的组成部分。肾活检病理在肾脏疾病的诊断、制定治疗方案、判断预后、发病机制研究都具有重要的意义。本文将分别阐述虚拟切片技术在肾内科临床、科研、教学方面的应用及其前景。

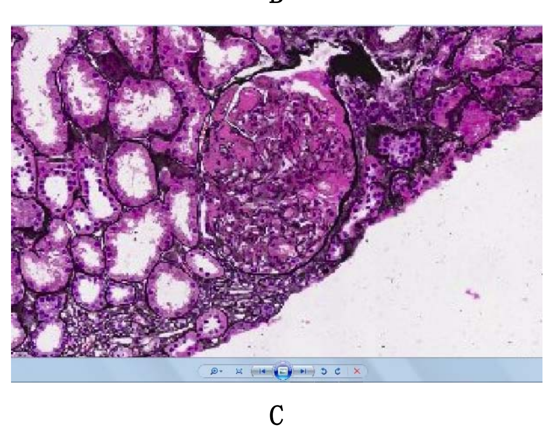


A

[1] 基金资助：北京协和医学院小规模特色办学经费资助青年教师培养项目（项目编号 2015zlgc0710）



B



C

图 1 使用虚拟切片浏览软件阅览 WSI（A 和 B）和普通图片浏览软件阅览静态图像（C）对比。A. 较低放大倍数下观察虚拟切片肾组织全貌. B. 放大后观察虚拟切片局部组织，分辨率不下降，并可标示和圈注。C. 普通图片浏览软件将静态图像放大后，分辨率下降。

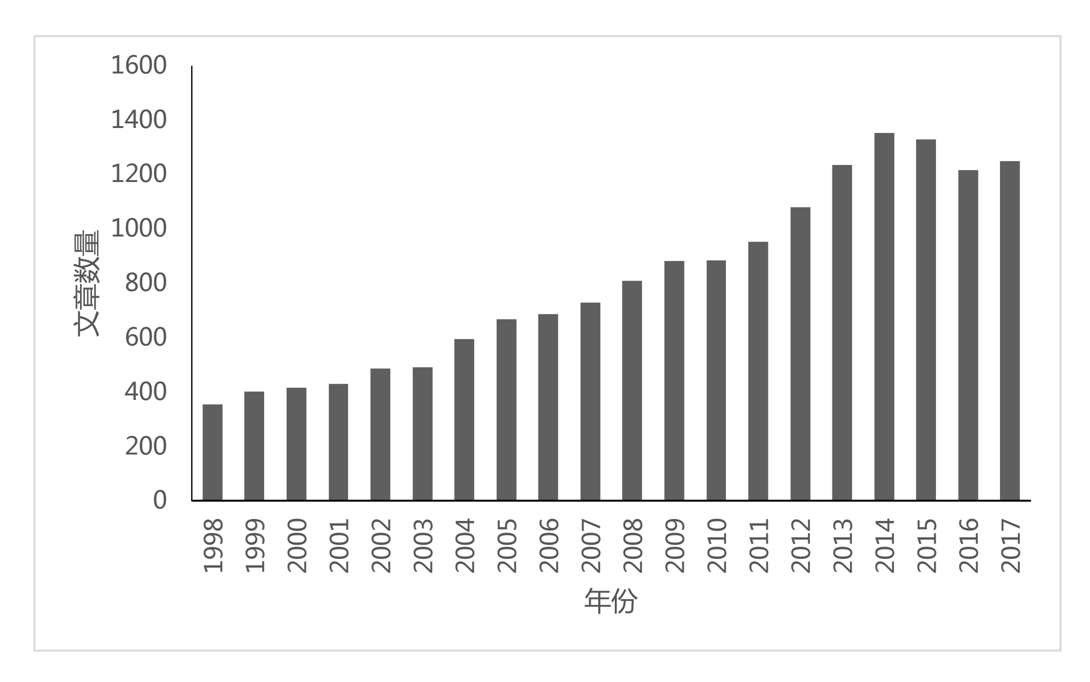


图 2 使用 virtual slide、digital pathology、whole slide image 作为检索词在 Pubmed 进行检索的年文章数量

临床远程会诊

虚拟切片用于包括初步诊断在内的外科手术病理临床工作的可行性已经多项研究验证，其与光镜病理切片诊断的一致性高达93%~97.7%。2017年，美国食品与药物管理局（FDA）也批准首个全切片影像系统-飞利浦智能网络病理解决方案(Philips IntelliSite Pathology Solution，Pips)用于数字病理的临床诊疗实践。远程病理（telepathology）并不是新生事物，上世纪60年代就已在美国波士顿麻省总医院开展[1]，其采用的远程会诊系统也在不断与时俱进，相较传统的玻璃切片和静态图片，无论是在图像的分辨率、信息的完整性，还是对于通讯设备的要求，虚拟切片技术在远程病理具有更多优势[2,3]。

精准医学的时代，随着分子病理学的发展，疾病诊断的复杂和精细化程度越来越高，临床专家的意见对于患者的个体化治疗决策尤为关键。WSI技术能更加有效的与远隔千里的临床专家分享病理信息，可以让来自不同国家和地区的多名专家同时共同参与疑难病例的会诊与讨论。虚拟切片提高了远程会诊的效率，患者的诊疗会更加及时，因此患者是这项技术在临床应用的直接受益者。

科研

虚拟切片技术相关的早期科学研究，主要集中在与传统的玻璃切片对比，虚拟切片用于临床诊断是否有较高的符合率，以及不同病理医生使用虚拟切片进行病理诊断的一致性。而随着人工智能在医学领域的应用，数字病理的科研也在不断推进。计算机通过对病理数据库的图像资料深度学习，对虚拟切片进行图像分析，自动检测虚拟切片中的病变区域并定量评估各项指标，辅助病理医生进行快速、准确、重复性高的病理诊断和疾病的病理分期，其中乳腺癌的相关研究进展相对较多[4,5]。多项研究表明，数字图像分析系统计算的Ki-67指数与病理医生得出的结果有较好的相关性，并可预测患者的无复发生存期[6,7]。此外，由于虚拟切片扫描系统不仅可以在X和Y轴扫描图像，还可在不同的层面（Z轴）进行扫描，通过最新的技术，可以通过3D方式呈现数字病理切片，进而更好地展示肿瘤的生长方式，该技术目前仍处于探索阶段[8]。肾脏数字病理的科研相对滞后，只在肾移植病理有少量科研文章发表[9]，缺少与人工智能、3D等新技术的结合。一方面是因为肾脏病理特性决定，肾脏的结构复杂、细胞种类繁多，肾脏疾病种

类多，有些肾脏疾病认识还存在盲区甚至争议，标本的充分性等因素也影响疾病诊断，因此进行肾脏数字病理的计算机深度学习，相比其他组织病理更具有挑战性；另一方面也与肾脏病理医生对于 WSI 的认知与了解尚不深入有关。也正因此，虚拟切片技术在肾脏病理存在巨大的潜在科研空间有待挖掘。

教学查房和临床病理讨论

数字病理在本科生病理教学中发挥着重要的作用。截至 2014 年，在美国超过 60%的医学院使用数字病理切片用于病理教学。WSI会提高学习者病理学习的效果。一项随机对照研究表明，利用出版物附加WSI图像的学习组的考核评分比对照组高出 72%[10]。

肾内科的教学查房，因为涉及肾脏病理结果，绝大多数为临床病理讨论。查房时需要展示完整的肾脏病理资料，才能使参与者获取准确的病理资料，抓住重点、有的放矢地讨论。用于病理教学的数字图像包括静态图像、实时动态图像以及 WSI。目前国内大多数医院肾内科的教学查房，主要以静态图像方式展示肾脏病理，尽管通过不同放大倍数采集多幅图像，但仍无法完整展示肾活检组织的所有病变内容，同时图像质量还受到制片染色、电荷耦合器件（CCD）摄像头分辨率、图像采集软件参数设置等诸多因素影响。因此管中窥豹的静态图像，有可能因采集图像的选择偏倚误导查房讨论的参与者和学习者，甚至得出错误的结论。实时动态图像尽管优于静态图像，但由于需要光学显微镜及专用的 CCD 摄像头，对空间和光线也有一定的要求，并非所有单位均能满足，且玻璃切片在转运过程中有丢失、破损的风险。WSI 既能展示肾脏活检组织的病变全貌，教学现场又无需依赖专用的光学仪器设备，是肾内科教学和临床病理讨论最佳的病理展示方式。

此外，全国或地区性的肾脏病年会临床病理讨论专题，因参与人数众多、时空限制、屏幕分辨率等因素，多数参会者往往无法清楚观察讨论过程中所展示的病理图像，学习效果会大打折扣。而 WSI 结合无线互联网及移动终端设备（手机、平板电脑等），可以使每个参会者都能近距离，自行缩放观察虚拟切片展示的信息。北京协和医院病理科与美国梅奥诊所近年来联合举办的协和-中美病理高峰论坛已经将虚拟切片技术用于病理读片会，可以免费在线阅读数字化的病理资料，受到与会者的广泛好评。肾内科的全国或地区会议也应与时俱进，将新技术用于

肾脏病理的继续教育内容。

专科医师培训

目前，肾内科专科医师培训（fellowship training）对于肾脏病理学习和考核内容，国内外医院并没有统一的标准。尽管多数肾内科临床医生不具备肾脏病理诊断的资质，但是通过系统的学习，掌握肾脏病理的基本病变和常见肾脏病的病理特点，对于提高肾脏病诊疗水平是十分必要的。肾内科专科医师培训制度亟待建立适合临床医生的肾脏病理学习和考核的教学培训内容。相较于传统的玻璃切片，数字切片更易于随时随地与他人分享。玻璃切片虽然来源于同一组织，但切面层次不同，不同的玻璃切片在细节内容可能会有所差异。相同的虚拟切片通过局域网形式在线提供给所有培训对象，可以使培训内容更加标准化。玻璃切片教学需要使用价格昂贵的共览显微镜，占用较大的空间，且切片久置易褪色，学习者复习切片也受到时空的限制。相当一部分用于教学的肾脏病理切片是少见的病例，由于石蜡组织有限，不可能反复切片重复染色。WSI 克服了玻璃切片的局限性，其便携性、容易保存、标注图像以及方便组织考试等特点，使其更加适合专科医师培训。

国外多个医学中心的病理科已经将虚拟切片技术用于专科医师培训。多项研究结果表明，标准化的病理在线培训系统能够激发学习者的兴趣，提高培训效果[11,12]。相较于无标示的数字病理切片，标示的数字病理切片用于住院医师教学，可以显著提高培训者的测验评分(17% vs. 3%, P=0.005)[13]。欧洲病理协会已将WSI用于标准化的在线病理评估与学习系统（EUROpean Pathology Assessment & Learning System, EUROPALS）[14]，以定期检测参加培训人员的学习效果，对其能力进行评估。虚拟切片技术不仅使得培训标准化，而且还可以记录学习者读片的全过程[15]，例如可以追踪学习者在给定时间内读片的区域、方式（X和Y轴、缩放及时间）以及读片时所做的标记。读片过程中配合使用人眼追踪摄像系统，可以采集医疗决策过程的更多信息[16]。由此可见，WSI追踪工具不仅有助于指导和评估学习者，还可以将采集的数据反馈给学习者，有助于其提高诊断水平[15,17]。

国内已有医学中心尝试应用虚拟切片技术开展针对肾内科临床医生的小规模临床病理学习班。学习者通过虚拟切片软件读片，结合简要的临床信息，对病理

特点进行描述，通过小组讨论，并在指导教师的指导和点评下，得出最终的病理诊断。但这种对针对肾内科专科医生的肾脏病理的实体课程，由于参与人数受限，影响力受限，仍有待进一步系统化、网络化。网络学习（e-learning ）因其支持远程、时间灵活、节省费用，在医学各个领域日渐普及，备受欢迎。如课程内容逐渐完善，未来可将具有教学意义的典型虚拟切片，与基层医院的肾内科专科医生通过网络分享，起到示范、引领及辐射的作用。虚拟切片技术是病理学网络学习的常用技术，这种交互式的WSI还可以促进基于问题的教学（PBL，problem based learning）[18]。

需要关注的问题

尽管虚拟切片技术有上述诸多优势，但一些潜在问题也应引起足够重视：1）投入费用：虚拟切片技术有赖于高分辨率的 WSI 扫描系统及优化算法的软件，需前期投入大量资金（多在数百万元以上）。此外，相关的存储空间、扫描人力、设备网络维护及升级成本也需考虑在内。2）存储空间：1 个放大 40 倍的肾组织标本切面的 WSI，通常需要数百兆的存储空间，如果虚拟切片数据库庞大，需要超大的存储硬盘及备份系统以防数据丢失。3）数据传输速度：由于虚拟切片数据存储空间大，网络交互共享时需要足够的带宽，否则传输速度慢则无法满足需要，这需要医院信息技术（IT）部门配合解决，以保证数据的有效传输。4）数据的安全与患者隐私保护：用于网络教学和培训的数据应获得相关伦理批准，使用前应去除与患者隐私有关的数据，同时加强监管，防止病理资源被窃取用于非法用途。

总结

虚拟切片技术已开始取代传统的玻璃切片和显微镜用于病理远程会诊、科研、教学，但在肾内科领域尚未广泛开展。鉴于虚拟切片技术相比传统玻璃切片具有明显的优势和广阔的发展前景，肾内科医生应借鉴病理科的使用经验，结合自身学科特点，充分利用虚拟切片这一新技术，使其更好地服务于肾内科临床、科研、教学与培训。

参考文献

[1] Weinstein R S. Prospects for telepathology[J]. Hum Pathol, 1986, 17(5): 433-434.

[2] Farris A B, Cohen C, Rogers T E, et al. Whole Slide Imaging for Analytical Anatomic Pathology and Telepathology: Practical Applications Today, Promises, and Perils[J]. Arch Pathol Lab Med, 2017, 141(4): 542-550.

[3] Jones N C, Nazarian R M, Duncan L M, et al. Interinstitutional whole slide imaging teleconsultation service development: assessment using internal training and clinical consultation cases[J]. Arch Pathol Lab Med, 2015, 139(5): 627-635.

[4] Gandomkar Z, Brennan P C, Mello-Thoms C. Computer-based image analysis in breast pathology[J]. J Pathol Inform, 2016, 7: 43.

[5] Helin H O, Tuominen V J, Ylinen O, et al. Free digital image analysis software helps to resolve equivocal scores in HER2 immunohistochemistry[J]. Virchows Arch, 2016, 468(2): 191-198.

[6] Morioka T, Niikura N, Kumaki N, et al. Comparison of Ki-67 labeling index measurements using digital image analysis and scoring by pathologists[J]. Breast Cancer, 2018, : .

[7] Klauschen F, Wienert S, Schmitt W D, et al. Standardized Ki67 Diagnostics Using Automated Scoring--Clinical Validation in the GeparTrio Breast Cancer Study[J]. Clin Cancer Res, 2015, 21(16): 3651-3657.

[8] Jansen I, Lucas M, Savci-Heijink C D, et al. Histopathology: ditch the slides, because digital and 3D are on show[J]. World J Urol, 2018, 36(4): 549-555.

[9] Jen K Y, Olson J L, Brodsky S, et al. Reliability of whole slide images as a diagnostic modality for renal allograft biopsies[J]. Hum Pathol, 2013, 44(5): 888-894.

[10] Yin F, Han G, Bui M M, et al. Educational Value of Digital Whole Slides Accompanying

Published Online Pathology Journal Articles: A Multi-Institutional Study[J]. Arch Pathol Lab Med, 2016, 140(7): 694-697.

[11] Li L, Dangott B J, Parwani A V. Development and use of a genitourinary pathology digital teaching set for trainee education[J]. J Pathol Inform, 2010, 1: 2-5.

[12] Kumar R K, Velan G M, Korell S O, et al. Virtual microscopy for learning and assessment in pathology[J]. J Pathol, 2004, 204(5): 613-618.

[13] Marsch A F, Espiritu B, Groth J, et al. The effectiveness of annotated (vs. non-annotated) digital pathology slides as a teaching tool during dermatology and pathology residencies[J]. J Cutan Pathol, 2014, 41(6): 513-518.

[14] Van Den Tweel J G, Bosman F T. The use of virtual slides in the EUROPALS examination[J]. Diagn Pathol, 2011, 6 Suppl 1: S23-S26.

[15] Walkowski S, Lundin M, Szymas J, et al. Students' performance during practical examination on whole slide images using view path tracking[J]. Diagn Pathol, 2014, 9: 208-215.

[16] Krupinski E A, Tillack A A, Richter L, et al. Eye-movement study and human performance using telepathology virtual slides: implications for medical education and differences with experience[J]. Hum Pathol, 2006, 37(12): 1543-1556.

[17] Crowley R S, Legowski E, Medvedeva O, et al. Evaluation of an intelligent tutoring system in pathology: effects of external representation on performance gains, metacognition, and acceptance[J]. J Am Med Inform Assoc, 2007, 14(2): 182-190.

[18] Horn A J, Czarnecki D, Lele S M. Interactive case vignettes utilizing simulated pathologist-clinician encounters with whole slide imaging and video tutorials of whole slide

scans improves student understanding of disease processes[J]. J Pathol Inform, 2012, 3: 34-38.